




学位論文審査の結果の要旨

審査区分 ①・論	第 571 号	氏名	玉利勇樹
審査委員会委員		主査氏名	花田 礼子 (印)
		副査氏名	梅原 久司 (印)
		副査氏名	石井 宏治 (印)
<p>論文題目 Acquisition of radioresistance by IL-6 treatment is caused by suppression of oxidation stress derived from mitochondria after γ-irradiation (IL-6 による放射線抵抗性獲得は γ 線照射後のミトコンドリア由来酸化ストレスを抑制することにより引き起こされる)</p> <p>論文掲載雑誌名 Journal of Radiation Research</p> <p>論文要旨 本研究は IL-6 による放射線抵抗性獲得機構を明らかにするために、ラット glioma 細胞株 C6 ならびにラットアストロサイト細胞株 RNB を用いて検討したものである。IL-6 が放射線抵抗性獲得に関与するということは既報にてすでに報告されているが、その詳細な機構解明はされていない。IL-6 添加 24 時間後に γ 線を照射し IL-6 の生成量を Bio-plex システムを用いて解析したところ、RNB では IL-6 の生成は僅かであったが、C6 では放射線照射により有意に IL-6 の生成が増加した。また、6Gy を照射した C6 の生存率は IL-6 添加によって増加したが、RNB の生存率は増加しなかった。さらに、二重鎖切断量を調べるために 53BP1 蛍光免疫染色法を行ったところ、照射 30 分後の C6 における 53BP1 フォーカス数は IL-6 添加により減少した。細胞内酸化度、ミトコンドリア内活性酸素量については、C6 の細胞内酸化度とミトコンドリア内活性酸素量は IL-6 添加により照射による増加を抑制したが、RNB では抑制しなかった。ミトコンドリア膜電位及びミトコンドリア膜透過性に関しては、C6 と RNB のミトコンドリア膜電位は IL-6 により抑制され、C6 のミトコンドリア膜透過性は IL-6 添加によって抑制された。細胞内の代謝物解析については GC/MS メタボローム解析を行ったところ、C6 では IL-6 処理によるピルビン酸、オレイン酸、ステアリン酸の減少が見られ、IL-6 処理による解糖系の抑制がピルビン酸の低下を引き起こし、ミトコンドリア機能を低下させた可能性が示唆された。以上より C6 では、IL-6 がミトコンドリア由来の活性酸素生成に影響を及ぼし、照射による酸化度の増加を抑制させることによって放射線抵抗性を獲得する可能性が示唆された。</p> <p>本研究は、glioma cell line である C6 細胞において IL-6 が解糖系を抑制することで結果として γ 線照射後のミトコンドリア由来酸化ストレスを抑制することを示したものである。今回は in vitro での解析であったがこれらの知見をもとに in vivo での検証を経て、将来、IL-6 経路を介する放射線抵抗性獲得作用に関する臨床応用への礎となる研究と考えられる。よって、審査員の合議により本論文は学位論文に値するものと判定した。</p>			

最終試験
の結果の要旨
~~学力の確認~~

審査区分 課・論	第 571 号	氏名	玉利 勇樹
審査委員会委員	主査氏名	花田 礼子 	
	副査氏名	橋本 久司 	
	副査氏名	石井 宏治 	
<p>学位申請者は本論文の公开发表を行い、各審査委員から本研究の目的、方法、結果、考察について下記の質問を受けた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. irradiation 後の ROS 産生は oxidative stress になるほどの高濃度か。 2. なぜ、C6 cell line を選んだのか？ または C6 glioma cell line より更に未分化で悪性度の高い Glioma cell line では検討しているのか。 3. 放射線照射による ROS の間接作用について説明せよ。 4. 放射線照射量はどのようにして決定したのか。 5. RNB 細胞においては細胞内 ROS は放射線照射で増加しているがミトコンドリア内 ROS は増加していない。この点についてはどのように解釈するか。 6. JC-1method による細胞染色に関して、蛍光強度(intensity)による比較で定量化しても良いのか。これらのマーカーなどで western blotting などの定量化をした方が良いのではないのか。 7. C6 細胞と RNB 細胞の元々の permeability の違いはどうか。 8. IL-6 受容体の発現量は C6 細胞と RNB 細胞で同程度か。 9. IL-6 にて β酸化が抑制される際の標的臓器はミトコンドリアだが、ROS 以降の標的分子は何が考えられるか。 10. 本実験の結果と Bystander 効果への影響について。 11. 通常 IL-6\uparrowにて、ROS\uparrowとなりそのサイクルが加速するが本研究では逆の結果となっている。その点についてどう考えるか。 12. In vivo での検討は考えているのか。 13. 実験で使用した IL-6 濃度はかなり高いように見えるが、実際に標準的で生体内であり得るような量か。 14. グリオーマ以外の他の悪性腫瘍でも IL-6 が放射線抵抗性に関与している報告があるのか。 15. サイトカインの Bio-plex assay では放射線照射により TNFα が減っているように見えるが、その点についてはどう考えるか。IL-6 のように照射後の時系列を追って調べてみたのか。 16. ミトコンドリア膜の透過性の亢進が IL-6 で増強する事で、何故 ROS による腫瘍細胞障害が減弱するのか。 17. 抗 IL-6 受容体抗体 (トシリズマブ) などが関節リウマチなどの実臨床で使用されているが、腫瘍細胞の放射線治療抵抗性を抑える目的で、そのような IL-6 阻害薬を用いた研究報告はあるのか。また今後そのような研究を進めていく予定はあるのか。 18. IL-6 の細胞内シグナルを伝達する JAK を阻害する薬剤 (トファシチニブなど) を使用しての研究はどうか。 19. 腫瘍の放射線感受性を IL-6 の産生をもとに評価する試みはすでに行われているか。 20. IL-6 添加前に serum starvation を行う理由はなにか。 21. 放射線照射によってミトコンドリアの膜電位が下がる機序はなにか。 22. IL-6 受容体の差を見たデータの文章による本文中の記載がない理由はなにか。 23. IL-6 による ROS 産生抑制のメカニズムと放射線照射による ROS 産生促進のメカニズムがどのように連関して、両者の組み合わせが結果として ROS の減少に結びつくと考えられるか。 24. 抗 IL-6 抗体を用いた中和実験は行ったか。抗 IL-6 抗体は放射線の感受性を増す可能性があるが、臨床応用への展望はどうか。 <p>これらの質問に対して、申請者は概ね適切に回答した。よって、審査委員の合議の結果、申請者は学位取得有資格者と認定した。</p>			

(注) 不要の文字は 2 本線で抹消すること。